

KLİNİK ÖRNEKLERDEN MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS KOMPLEKS TANISINDA MTD (GEN-PROBE) SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF MTD (GEN-PROBE) RESULTS FOR DIRECT DETECTION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX IN CLINICAL SPECIMENS

Can BİÇMEN¹ Meral COŞKUN¹ Ayрыз T. GÜNDÜZ¹
Güneş ŞENOL¹ A. Kadri ÇIRAK² Serir AKTOĞU ÖZKAN²

Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

¹ Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ² Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Servisi

Anahtar sözcükler: Tüberküloz, MTD, Gen-Probe, moleküler tanı

Key words: Tuberculosis, MTD, Gen-Probe, molecular detection

ÖZET

Bu çalışmada, pulmoner ve ekstrapulmoner örneklerden MTD (Mycobacterium tuberculosis direct test) (Gen-Probe, Inc. San Diego, A.B.D.) testi ile Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTB) moleküler tanısının kültür sonuçları ve klinik veri ile karşılaştırılarak duyarlılık ve özgüllüğünün retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına Temmuz 2004 ve Mayıs 2005 tarihleri arasında kabul edilen toplam 764 örnek (%84 pulmoner ve %16 ekstrapulmoner) çalışmaya alındı. Tüm örnekler asido-rezistan boyama, kültür ve MTD uygulandı. MTD sonuçları üretici firma önerileri doğrultusunda değerlendirildi. 30.000 ve 499.999 RLU arasındaki değerler kuşku sınır olarak düşünüldü ve tüm kuşku sonuçları için test yineleni. Uyumsuz sonuçlar, klinik veri ve örneklerin yinelenen sonuçları ile beraber değerlendirildi. MTD, kültür ve yayma pozitifliği, sırasıyla, %19.1, %17.7 ve %4.3 olarak bulundu. Dört örneğin MTD sonucu kuşku sınır olarak saptandı. Altı örneğin kültür sonucu kontaminasyon ve dört örnek ise atipik mikobakteri olarak belirlendi. Genel olarak, örnekler için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif

SUMMARY

Evaluation of sensitivity and specificity of the molecular detection of Mycobacterium tuberculosis complex (MTB) by MTD (Gen-Probe, Inc., USA) for diagnosis of tuberculosis in comparison with culture results and clinical outcome was intended. A total of 764 specimens submitted to the microbiology lab of our hospital between July 2004 and May 2005 were studied. Acid-fast staining, culture and MTD were performed on all samples. Among the specimens, 84% and 16% of them were pulmonary and extrapulmonary specimens, respectively. MTD results were interpreted according to the manufacturer's recommendations. The values between 30,000 and 499,999 RLU were considered as indeterminate. All indeterminate results were repeated twice. Resolution of discordant results was accomplished by incorporating clinical data and repeated specimen analysis. MTD, culture and smear positivity were 19.1%, 17.7% and 4.3%, respectively. MTD results for four specimens were indeterminate. Six of culture results were contaminated and four of them were identified as atypical mycobacterium. Overall sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for the specimens were found as 94.1%, 99.1%,

prediktif değerler sırasıyla, %94.1, %99.1, %99.2 ve %99.5 olarak bulundu. Pulmoner, ekstrapulmoner, yayma pozitif ve yayma negatif örnekler için duyarlılık, sırasıyla, %93.8, %80, %100 ve %91.7 olarak hesaplandı. Hem ekstrapulmoner ve hem de pulmoner örneklerin özgüllüğü %99.1 olarak bulundu. Kültür ve yayma ile negatif ve MTD ile pozitif bulunan 13 örnek, klinik veri ile tüberküloz olarak değerlendirildi. Sonuç olarak, nükleik asit amplifikasyon temelli MTD testi, klinik örneklerden MTB'in hızlı tanısında güvenilir olmakla birlikte, seçilmiş hastalarda, klinik veriler ve geleneksel tanı yöntemleri ile beraber yorumlanarak kullanılması gerektiği düşünüldü.

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), sıklıkla "Mycobacterium tuberculosis kompleks" diye tanımlanan bir grup mikobakterinin (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) neden olduğu ve genellikle akciğeri ve/veya vücudun diğer organlarını da tutan infeksiyöz bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre; dünyada 1.7 milyar insan *Mycobacterium tuberculosis* ile infektedir. Basili taşıyan insanların 20 milyonu aktif tüberkülozlidir, bunlardan yılda üç milyondan fazlası ölmektedir. Her yıl sekiz milyon yeni tüberküloz olgusu ortaya çıkmaktadır ve bunların üç milyonu bulaştırıcıdır (1,2-5).

Mycobacterium tuberculosis (MTB) kompleks tanısında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Yayma ve kültür (sıvı ve katı ortamlar, otomatize ve yarı-otomatize sistemler) bu amaçla kullanılan geleneksel yöntemlerdir (2-5). Bunlar yanı sıra, şimdiye kadar çok sayıda moleküler test "in-house" araştırma çalışmalarında ve rutin kullanım için geliştirilmiştir (6-8). Ters transkripsiyon temelli "MTB direct test" (MTD) (Gen-Probe, Inc. San Diego, A.B.D.), klinik örneklerden tüberkülozun hızlı moleküler tanısı için ticari olarak sağlanabilen bir nükleik asit amplifikasyon (NAA) testi olup, bu testin ikinci versiyonu yayma pozitif ve negatif pulmoner örnek-

99.2% and 99.5%. Sensitivity for pulmonary, extrapulmonary, smear positive and smear negative specimens were 93.8%, 80%, 100% and 91.7%, respectively. Specificities for extrapulmonary and pulmonary specimens were found as 99.1% for each. Thirteen MTD positive specimens which were found as negative with culture and smear were diagnosed as tuberculosis by incorporating clinical data. In conclusion, MTD test can be used as a rapid, reliable and accurate detection of MTB in clinical specimens. However, MTD should be used in selected patients and should be interpreted in accordance with the clinical outcome and conventional diagnostic techniques.

lerde kullanım için 1999 yılında, A.B.D.'de, "Food and Drug Administration (FDA)" onayı almıştır (9). Amplifiye örnekten doğrudan mikobakterinin rRNA'sını hedef alarak *M. tuberculosis*'i 3.5 saat içerisinde tanımlayan ve transkripsiyon esasına dayalı amplifikasyon (TMA) ve Gen-Probe Hibridizasyon Protectior Assay (HPA) tekniklerinin birleştirildiği bir sistemdir (10). Bu çalışmada, pulmoner ve ekstrapulmoner örneklerden MTB kompleks'in direkt tanısında MTD testinin rutin kullanımının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Temmuz 2004 ve Mayıs 2005 tarihleri arasında kabul edilen toplam 764 klinik örnek çalışmaya alındı. Tüm örnekler, asidorezistan boyama, BACTEC 960 (MGIT) TB sistemi (BD Biosciences, A.B.D.) ve Löwenstein-Jensen (L-J) besiyerinde kültür ve moleküler tanı için MTD uygulandı. Örneklerin %84'ü pulmoner (326 bronş aspirasyon, 283 balgam ve 32 BAL) ve %16'sı ekstrapulmoner (60 plevra sıvısı, 19 idrar, 18 biopsi, 7 gastrik lavaj, 2 kemik iliği, 1 gaita ve 16 diğer vücut sıvı örneği) kaynaklıydı. MTD prosedürü üretici firma önerilerine göre çalışıldı ve değerlendirildi. İşaretli RNA:DNA hibritleri lumino-

metrede Bağıl Işık Birimi (Relative Light Unite-RLU) cinsinden ölçüldü. 30.000 ve 499.999 arasındaki değerler kuşku sınır olarak kabul edildi. Tüm kuşku sonuçları yinelenildi. Çelişkili ve uyumsuz sonuçların yeniden değerlendirilmesi örneğin tekrar analizi ve klinik veri ile beraberce yapıldı.

BULGULAR

MTD, kültür ve yayma pozitifliği, sırasıyla, %19.1, %17.7 ve %4.3 olarak bulundu. Dört örneğin MTD sonucu kuşku sınır olarak kabul edildi. Altı örneğin kültür sonucu kontaminasyon, dört örneğin kültür sonucu ise atipik mikobakteri olarak saptandı. Örnekler için yayma, kültür ve MTD sonuçları Tablo 1’de gösterilmektedir. Genel olarak, örneklerin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler %94.1, %99.1, %99.2 ve %99.5 olarak bulundu. Sırasıyla, pulmoner, ekstrapulmoner, yayma pozitif ve yayma negatif örnekler için duyarlılık %93.3, %80.0, %100 ve %91.7 olarak hesaplandı. Ekstrapulmoner ve pulmoner örnekler için özgüllük %99.1, pozitif ve negatif prediktif değerler ise sıra-

sıyla %100-%99.2 ve %100-%99.6 olarak bulundu. Örnekleri kültür ve yayma ile negatif ve MTD ile pozitif olarak saptanan 13 hasta örneği klinik veri (öksürük, hemoptizi, kilo kaybı, gece terlemesi, v.b.) ile tüberküloz olarak değerlendirildi. Pulmoner, ekstrapulmoner, yayma pozitif ve negatif örnekler için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler Tablo 2’de gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Mikobakteriler doğada çok yaygın bir grup bakteriyi kapsamaktadır. Bu bakterilerden bir kısmı insanlarda önemli hastalıklara neden olabilmektedir. Mycobacterium tuberculosis kompleks üyeleri Mycobacterium genusunda bulunan en önemli insan patojenleridir. Mikobakterilerin mikrobiyolojik tanı ve tanımlanmasındaki geleneksel yöntemler, mikroskopi, kültür ve fenotipik testlerdir. Bu yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü TB’nin tanısında bazı durumlarda yetersiz kalmakta veya kesin tanı uzun zaman gerekmektedir (11-13). Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, MTB kompleks ve atipik mikobakterilerin gerek kültürlerden

Tablo 1. Çeşitli klinik örneklerin yayma, kültür ve MTD sonuçları.

Örnek cinsi (n=764)	Yayma (%)		Kültür (%)		MTD (%)		KS ²
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif ¹	Pozitif	Negatif	
Bronş asp. (n=326)	4 (1.2)	322 (98.8)	53 (16.3)	273 (83.7)	56 (17.2)	269 (82.5)	1 (0.3)
Balgam (n=283)	29 (10.2)	254 (89.8)	72 (25.4)	211 (74.6)	82 (28.9)	199 (70.3)	2 (0.7)
Plevral sıvı (n=60)	-	60 (100)	1 (1.7)	59 (98.3)	-	59 (98.3)	1 (1.7)
BAL (n=32)	-	32 (100)	5 (15.6)	27 (84.4)	3 (9.4)	29 (90.6)	-
İdrar (n=19)	-	19 (100)	1 (5.3)	18 (94.7)	1 (5.3)	18 (94.7)	-
Biopsi (n=18)	-	18 (100)	1 (5.6)	17 (94.4)	2 (11.1)	16 (88.9)	-
Gastrik lavaj (n=7)	-	7 (100)	1 (14.3)	6 (85.7)	1 (14.3)	6 (85.7)	-
Kemik iliği (n=2)	-	2 (100)	-	2 (100)	-	2 (100)	-
Gaita (n=1)	-	1 (100)	-	1 (100)	-	1 (100)	-
Diğer vücut sıvıları (n=16)	-	16 (100)	1 (6.3)	15 (93.7)	1 (6.3)	15 (93.7)	-
Toplam (n=764)	33 (4.3)	731 (95.7)	135 (17.7)	619 (82.3)	146 (19.1)	614 (80.4)	4 (0.5)

¹ Altı kültür kontaminasyon ve dört kültür atipik mikobakteri olarak saptandı.

² KS: kuşku sınır (30.000-499.999 RLU)

Tablo 2. Klinik örneklerde MTD Gen-Probe için duyarlılık ve özgüllük değerleri.

Örnek cinsi	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)
Pulmoner	93.8	99.1	99.2	99.6
Ekstrapulmoner	80.0	99.1	100	100
Yayma pozitif	100	HY*	100	HY*
Yayma negatif	91.7	99.1	91.7	97.1
Genel Sonuç	94.1	99.1	99.2	99.5

PPD: pozitif prediktif değer, NPD: negatif prediktif değer, HY: Hesap yapılmadı

* Bu değere karşılık gelen örnek bulunmadığından hesaplanmadı.

mikrobiyolojik tanısı ve ilaç direnci gerekse direkt olarak hasta örneklerinden kısa zamanda TB tanısını sağlayabilmektedir (14).

Eylül 1999'da, FDA, MTD'in geliştirilmiş versiyonunu, yayma pozitif ve negatif örnekler için onaylamıştır. Başka bir ticari NAA testi olan Amplicor (Roche Diagnostic Systems, Inc., A.B.D.) ise yayma pozitif solunum yolu örnekleri için onay almıştır (9). CDC (Centers for Disease Control and Prevention) bu gelişmeleri göz önüne alarak bir güncelleme ile tüberkülozun moleküler tanısı için bazı önerilerde bulunmuştur. NAA ile test edilecek uygun örnek sayısı klinik durum, TB prevalansı, atipik mikobakteri prevalansı ve laboratuvarın deneyimine göre değişebilmektedir. Eldeki verilere göre, tanı konulamayan fakat aktif pulmoner TB belirti ve semptomlarını gösteren hastalarda, belirlenen algoritmalara göre kullanılması önerilmektedir (6,9). Buna göre, Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) boyaması ile direkt mikroskopi ve mikobakteri kültürü için hastalardan üç ayrı günde üç balgam örneği alınmalıdır. İlk örnekte direkt bakıda asidorezistan basil (ARB) ve NAA test sonuçları pozitif ise; hastanın tüberkülozlu olduğu kabul edilir, test tekrarına gerek yoktur. Eğer ilk balgam ARB pozitif, ancak NAA test sonucu negatif ise; örnekte inhibitör varlığı araştırılmalıdır. Araştırma sonucu herhangi bir inhibitör madde tesbit edilemez ise; ikinci bir balgam örneği ile NAA test tekrarı yapılmalıdır. İkinci balgamda da ARB pozitif, NAA test sonucu negatif bulunup herhangi

inhibitör madde saptanmaz ise; hastanın muhtemel olarak MOTT basili ile infekte olabileceği düşünülmektedir. Eğer inhibitör varlığı tespit edilmiş ise bu durumda NAA test sonucunun tanı değeri yoktur. Böyle bir durumda ikinci balgam örneğinde NAA test işlemi tekrarlanmalıdır.

Önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, MTD'nin duyarlılık ve özgüllüğü, sırasıyla %83-100 ve %76-100 değerleri arasında bildirilmiştir (6,15-18). Solunum yolu örneklerinde, duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler, sırasıyla, %88.0-97.1, %90.4-100, %93.9-99.1 ve %90-99.2 arasında saptanmıştır (6,19-23). Direkt bakı pozitif örneklerde bu değerler sırasıyla %93.8-100, %100, %100 ve %87.5 olarak saptanırken, direkt bakı negatif örnekler için, sırasıyla, %72.3-100, %98.8-99.4, %62.5-94.7 ve %99.4-100 olarak değerlendirilmiştir (6,16). Çeşitli çalışmalarda MTD testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri Tablo 3'de görülmektedir. MTD pozitifliği, direkt bakı negatif, kültür negatif örneklerde %1.3'tür (6). Ekstrapulmoner tüberkülozlu hastalarda MTE kompleks'in örneklerden direkt tanısında sistemin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri, sırasıyla, %61.1-92.8, %94.1-100, %92.8-100, %94.1-98.0, %98.5-100 arasında bildirilmiştir (19-21,23,24). Bununla birlikte duyarlılık, direkt bakı pozitif örneklerde artış gösterirken (%92), direkt bakı negatif örneklerde düşüktür (%83) (6). Yapılan bu çalışmalarda, klinik veriler, testin

Tablo 3. Mycobacterium tuberculosis direct test (MTD) testi için çeşitli araştırmalarda saptanan duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerlerin dağılımı.

Araştırmacı (kaynak no)	Duyarlılık (%)					Özgüllük (%)					PPD (%)				NPD (%)					
	G	P	EP	Y (+)	Y (-)	G	P	EP	Y (+)	Y (-)	G	P	EP	Y (+)	Y (-)	G	P	EP	Y (+)	Y (-)
Dorronsoro ve ark., 2005 (15)	95	-	-	-	-	76	-	-	-	-	71	-	-	-	-	96	-	-	-	-
Coll ve ark., 2003 (19)	-	90.8	67.4	-	-	-	99.9	99.9	-	-	-	99.1	98.2	-	-	-	99.2	97.9	-	-
Woods ve ark., 2001 (24)	-	-	89.5	-	-	-	-	100	-	-	-	-	100	-	-	-	-	98.0	-	-
Smith ve ark., 1999 (16)	95.2	-	-	93.8	100	98.8	-	-	100	98.8	87.0	-	-	100	62.5	99.6	-	-	87.5	100
Dailloux ve ark., 1996 (20)	-	91.4	61.1	-	-	-	97.9	98.6	-	-	-	-	-	-	-	-	91.4	-	-	-
Della-Latta ve ark., 1998 (21)	-	88.7	-	-	-	-	95.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	88.7	-	-	-
Chedore ve ark., 1999 (17)	100	-	-	-	-	99.6	-	-	-	-	97.4	-	-	-	-	100	-	-	-	-
Pounder ve ark., 2006 (18)	98.0	-	-	-	-	99.2	-	-	-	-	98.0	-	-	-	-	99.2	-	-	-	-
Ozyurt, 2003 (derleme) (6)	85-91.4	88.0-91.2	-	100	72.3-85.7	96.4-100	99.1-100	-	100	99.4	-	95.9-98.6	-	100	85.7-94.7	-	91.7-99.4	-	87.5	99.4
Çavusoglu ve ark., 2002 (22)	-	91	-	-	-	-	93	-	-	-	-	94	-	-	-	-	90	-	-	-
Artan, 2005 (23)	-	97.1	92.8	-	-	-	90.4	94.1	-	-	-	94.4	92.8	-	-	-	95	94.1	-	-

Kısaltmalar: G: Genel, P: Pulmoner, EP: Ekstrapulmoner, Y: Yayma, -: Bildirilmemiştir.

yorumlanması, test edilen popülasyonun özellikleri, örneklerin özellikleri gibi faktörlere bağlı olarak duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerlerde farklılıklar gözlenmektedir. Dorronsoro ve ark. (15), yayma pozitif örneklerde, testin yüksek özgüllük gösterdiğini ve MTB kompleksi ayırdığını bildirmişlerdir. Yayma negatif örneklerde ise özellikle yoğun iş yükünün olduğu serilerde özgüllük ve pozitif prediktif değerler düştüğü gözlenmiştir. Bir başka çalışmada ise, kuşku sınır hesaba katıldığında, diğer performans kriterlerini anlamlı ölçüde değiştirmeden duyarlılık ve pozitif prediktif değerlerin %99.1 ve %88.6'dan %99.9 ve %98.9'a çıktığı belirtilmiştir (19). Amplifikasyon inhibitörlerinin araştırılması yalancı-negatif sonuçları, yayma negatif amplifikasyon pozitif sonuçların kontrolü, yalancı-pozitif sonuçları azaltmaktadır (20). Chedore ve ark.'nın (17) çalışmasında ise MTD duyarlılığının %100 bulunması, kullanılan klinik örneğin direkt

M. tuberculosis üreyen gruptan seçilmiş olmasına bağlıdır. Bazı çalışmalarda, sağaltım sırasında kültür negatif örneklerde MTD pozitif bulunabilmektedir (22). Üremeyen mikroorganizmaların yerleşim süresi çok geniş olmakla birlikte, maksimum 254 gün veya genellikle daha kısa olabilmektedir. MTB rRNA'sının fiziksel durumu, üremeyen organizmanın yerleşim süresince tam olarak bilinmemektedir. ARB yayma sonuçları pozitif olduğunda, kültürde üremeyen organizmanın yerleşim süresince MTD ile pozitiflik saptanması, yapısı bozulmuş olan organizmaların saptanabilir bir rRNA dizisine sahip olduklarını düşündürmektedir. Bu tür örneklerde kültürde üreme gözlenmemektedir, çünkü bakteriler ya tamamen cansız veya yapısı bozulmuş olmaları nedeniyle laboratuvar koşullarında ürememektedirler (22,25,26). Bu nedenle, uzun süre sağaltım almış hastalarda MTD testi pozitif olarak saptanabilmektedir. Bunun yanı sıra, moleküler

yöntemlerin geleneksel yöntemlerden daha duyarlı olması nedeniyle, daha az basil yükünün bulunduğu örneklerde geleneksel yöntemlerle negatif bulunan bazı örnekler moleküler yöntemlerle pozitif bulunabilmektedir (13,23,24,27). Tek başına moleküler yöntemlerin hastanın tanısı için değer taşıdığı bilinmekle beraber, klinik yönden yüksek derecede kuşkulu hastalarda yineleyen örneklerde pozitiflik saptanması tanı açısından önem taşımaktadır (9,15). Bizim çalışmamızda da, örnekleri kültür ve yayma ile negatif ve MTD ile pozitif olarak saptanan 13 hasta örneği klinik veri ile tüberküloz olarak değerlendirildi ve bu hastaların yineleyen örneklerinde MTD pozitif olarak saptandı. Klinik veri ile birlikte moleküler yöntemin değerlendirildiği bir çalışmada, uzmanlarca bir başka FDA onaylı Cobas Amplicor testi, pulmoner tüberküloz kuşkulu bireylerde çalışılmış ve göğüs hastalıkları uzmanları tarafından klinik tanısall yönü araştırılmıştır (28). Bu çalışmada, sonuç olarak, NAA testinin hızlı pulmoner TB tanısındaki performansının klinisyenlerin klinik yorumuna bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Buna göre, uzmanlar test öncesi yüksek-orta olasılıklı ön tanılara sahip hastaları seçmişlerdir. Pozitif bir NAA test sonucunda hemen tedaviye başlamışlardır. Bazı hastalarda ise yüksek derecede klinik kuşku bulunması nedeniyle yayma ve NAA test sonucu negatif bulunmasına rağmen tedaviye başlamak istemişlerdir. MTD testinin yayma pozitif olgularda tüberkülozun hızlı tanısında güvenilir bir test olduğu ancak rutin her örnek için yapılmaması gerektiği vurgulanmıştır. Sonuç olarak, amplifikasyon deneyleri henüz geleneksel tekniklerin yerini tutmamakla birlikte, klinik veri ve geleneksel yöntemler ile beraber MTD'nin M. tuberculosis'in hızlı mikrobiyolojik tanısında güvenilir olduğu düşünülmüştür (9,19,28).

Birçok çalışmada, yüksek duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler bildirilmekle birlikte, ekstrapulmoner örnek-

lerde, duyarlılığın daha düşük olduğu, yine yayma negatif örneklerde duyarlılığın ve pozitif prediktif değerinin daha düşük bulunduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da, önceki yıllarda yapılan çalışmalarla uyumlu sonuçlar alınmıştır. Çalışmamızda, genel olarak, sırasıyla, duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler %94.1, %99.1, %99.2 ve %99.5 olarak saptanmıştır. Bu değerler pulmoner örneklerde, %93.8, %99.1, %99.2 ve %99.6 iken ekstrapulmoner örneklerde, %80.0, %99.1, %100 ve %100 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da, ekstrapulmoner örneklerde duyarlılık, pulmoner örneklerle göre daha düşük olmakla birlikte, yayma negatif örneklerde, duyarlılık ve pozitif prediktif değerlerde daha az oranda bir düşme görülmektedir (Tablo 2).

Nükleik asit amplifikasyon testleri, solunum yolu örneklerinde, MTB kompleks'in direkt tanısı için geleneksel boyama, kültür ve identifikasyon testlerinden daha hızlı tanı sağlama potansiyeline sahiptir (11-13,14). Bu testler, ekstrapulmoner tüberküloz tanısı için de denenmektedir (19,20,23,24). Bu testlerin performansı solunum yolu örneklerinden alınan performans ile karşılaştırılmaktadır (19,20,23). NAA testleri aynı zamanda kan dışında tüm örnek tiplerinde ve pozitif sıvı kültürlerinden hızlı tanı için kullanılabilir (27). NAA testlerinin hastanın kliniği üzerindeki etkisi ARB yayma sonucuna göre değişmekte ve yayma pozitif örneklerle, halk sağlığı ve hastane infeksiyon kontrol kaynakları belirgin olarak etkilenmektedir (27). Yayma negatif sonuçlarla ise hasta kliniğini etkileme potansiyeli çok daha yüksektir. Yayma negatif hastalarda, NAA testi, TB'nin daha erken tanısının konmasını ve tedavisinin başlamasını sağlamaktadır. Bu testlerin kullanılması, pahalı olan ve hastaya ek risk yükleyen invazif tanısall girişimleri azaltabilmektedir. Ayrıca hastanın daha erken taburcu edilmesini sağlamaktadır (27). Dowdy ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, MTD testinin

rutin kullanımında dört faktörün göz önünde bulundurulması önerilmiştir: test edilecek popülasyonda rölatif TB prevalansı, bir yılda işlenen yayma pozitif örneklerin sayısı, bir hastanın hastanede izole edilerek yatırılmasının maliyeti ve test reaktiflerinin maliyeti. Genel olarak, eğer bu faktörlerden ikisi MTD testinin yapılmasını destekliyorsa, TB'nin standart tanısal değerlendirmesinde bir komponent olarak maliyet-etkin bir seçenek olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür (29). Bu çalışmada, bazı durumlarda yayma-pozitif solunum yolu örnekleri için MTD testinin rutinde maliyet-etkin olarak kullanılabilirliği gösterilmesine karşın, hızlı moleküler TB tanısının en ümit verici kullanım alanı yayma negatif kuşkulu TB hastalarıdır. Yapılan çalışmalarda bulgulara dayanarak yayma negatif TB hastalarının enfeksiyöz olabileceği ve rutin MTD testinin bu hastaları kültür sonucundan günler veya haftalar öncesinden tanımlaması ile hastalığın bulaştırılmasının önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (29). Catanzaro ve ark. (30), yüksek TB riski taşıyan hastaların yayma-negatif örneklerinde MTD testinin klinik yorumla beraber kullanıldığında yüksek pozitif ve negatif prediktif değerlere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, yayma negatif olgularda MTD'nin maliyet-etkinliği kritik bir konu olarak kalmaktadır. Ancak, bu testlerin yayma negatif veya ekstrapulmoner örneklerde, NAA testlerinin bu örneklerde duyarlılığının ve negatif pre-

diktif değerinin daha düşük olmasına karşın ekstrapulmoner TB tanısının konması klinik açıdan önem taşımaktadır. Bununla birlikte, NAA testlerinin TB'nin tanısı ve hastanın klinik gidişinin izleminde tam bir performans göstermesi için maliyet-etkin bir tanısal stratejinin araştırılması ve geliştirilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, birçok moleküler sistem rutin uygulamalarda özellikle hızlı tanı amaçlı olarak kullanılmaktadır. MTD testi, moleküler yöntemler içerisinde standardize edilmiş ve laboratuvarlarca kullanılmış güvenilir bir testtir. Günümüzde direkt olarak örnekten aynı test içerisinde, MTB kompleks ile birlikte en sık karşılaşılan atipik mikobakterileri de tanımlayan yeni ticari moleküler yöntemler geliştirilmiş ve rutin kullanıma girmiştir. NAA temelli testler, uluslararası standartlara uygun, temiz ve kirli alanların oluşturulduğu altyapı ve deneyimli personelin bulunduğu laboratuvarlarda uygulanmalıdır. Seçilmiş hastalarda, klinik bulgular ve geleneksel yöntemlerle beraber kullanıldığında, TB'nin hızlı tarama ve tanısında, tedavi planlaması ve korunmada oldukça etkin bir araç olarak görünmektedir. Bununla birlikte, özellikle ekstrapulmoner örneklerde, standardize edilerek rutin kullanıma uygun yeni yöntemlerin geliştirilebilmesi için geleneksel altın standart yöntemlerle karşılaştırmalı olarak, yeni moleküler biyolojik yöntemler ve klinik verilerin beraber değerlendirildiği ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization (2005) Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO report Geneva, 2005. WHO/HTM/TB/2005.349.
2. Haas DW, Prez RM. Mycobacterium tuberculosis. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases (4th ed). Vol 2. Churchill Livingstone Inc, Washington DC 1995, 2213-43.
3. Mechock BG, Nolte FS, Wallace RJ. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds), Manual of Clinical Microbiology (7th ed). American Society for Microbiology, Washington DC 1999, 399-437.
4. Pfyffer GE, Brown-Elliott BA, Wallace RJ. Mycobacterium: General characteristics, isolation and staining procedures. Murray PR,

- Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenenbaum BC, Tenenbaum BC (eds), *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edition. ASM Press: Washington DC 2003; 532-59.
5. Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggerio G, Ricordi P, Piersimoni C. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 in comparison with BACTEC 460 TB for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 157-61.
 6. Özyurt M. Tüberkülozun laboratuvar tanısında kullanılan moleküler ticari tanı sistemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003.
 7. Kocazeybek B. Akciğer tüberkülozu ve akciğer dışı tüberküloz tanısında in-house polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kültürle karşılaştırılması. *İnfek Derg* 2002; 16(2): 187-93.
 8. Kocagöz T, Yılmaz E, Özkara Ş, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum samples by polymerase chain reaction using a simplified procedure. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1435-8.
 9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Nucleic acid amplification tests for tuberculosis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2000;49(26): 593-4.
 10. Gamboa F, Fernandez G, Padilla E, et al. Comparative evaluation of initial and new versions of the Gen-Probe amplified Mycobacterium tuberculosis direct test for direct detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 684-9.
 11. Bradly SP, Reed SL, Catanzaro A. Clinical efficacy of amplified Mycobacterium tuberculosis direct test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1606-10.
 12. Piersimoni C, Callegaro A, Scarparo C, et al. Comparative evaluation of the new Gen-Probe Mycobacterium tuberculosis amplified direct test and semiautomated Abboth LCX M. tuberculosis assay for direct detection of M. tuberculosis complex in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3601-4.
 13. Uzun M. Tüberküloz tanısında Ehrlich-Ziehl-Neelsen, florokrom boyama yöntemleri ile Bactec ve Löwenstein-Jensen, kültür yöntemlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi. (Doktora tezi). İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 1994.
 14. Shamputa IC, Rigouts And L, Portaels F. Molecular genetic methods for diagnosis and antibiotic resistance detection of mycobacteria from clinical specimens. *APMIS* 2004;112 (11-12): 728-52.
 15. Dorronsoro I, Navascues A, Gastesi C, Salicio Y, Ojer M, Ruz A. Evaluation of the MTD-2 test for the direct detection of Mycobacterium tuberculosis in specimens. *An Sist Sanit Navar* 2005; 28(3): 351-6.
 16. Smith MB, Bergmann JS, Onoroto M, Mathews G, Woods GL. Evaluation of the enhanced amplified Mycobacterium tuberculosis direct test for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123(11): 1101-3.
 17. Chedore P, Jamieson FB. Routine use of the Gen-Probe MTD2 amplification test for detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical specimens in a large public health mycobacteriology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35(3): 185-91.
 18. Pounder JI, Aldous WK, Woods GL. Comparison of real-time polymerase chain reaction using the Smart Cycler and the Gen-Probe amplified Mycobacterium tuberculosis direct test for detection of M. tuberculosis complex in clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 54(3): 217-22.
 19. Coll P, Garrigo M, Moreno C, Marti N. Routine use of Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct (MTD) test for detection of Mycobacterium tuberculosis with smear-positive and smear-negative specimens. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2003;7(9):886-91.
 20. Dailloux M, Laurain C. Value of nucleic acid amplification methods AmpliCor (Roche) and Amplified MTD (Gen-Probe) for the rapid diagnosis of tuberculosis. *Ann Biol Clin* 1996; 54(7): 297-301.
 21. Della-Latta P, Whittier S. Comprehensive evaluation of performance, laboratory application,

- and clinical usefulness of two direct amplification technologies for the detection of Mycobacterium tuberculosis complex. *Am J Clin Pathol* 1998 ; 110(3): 301-10.
22. Çavuşoğlu C, Güneri S, Suntur M, Bilgiç A. Clinical Evaluation of the FASTPlaqueTB for the Rapid Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *Turk J Med Sci* 2002; 32: 487-92.
23. Artan MO. Tüberkülozun Tanısında Kullanılan "Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test" in Uygulanması ve Konvansiyonel Yöntemlerle Karşılaştırılması. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 27 (1): 5-10.
24. Woods GL, Bergmann JS, Williams-Bouyer N. Clinical Evaluation of the Gen-Probe amplified mycobacterium tuberculosis direct test for rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in select nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol* 2001; 39(5): 1993-5.
25. Moore DF, Curry JI, Knott CA, Jonas V. Amplification of rRNA for assessment of treatment response of pulmonary tuberculosis patients during antimicrobial therapy. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1745-9.
26. Vlasplolder F, Singer P, Roggeven C. Diagnostic value of an amplification method (Gen-Probe) compared with that of culture for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2699-703.
27. Woods GL. Molecular methods in the detection and identification of mycobacterial infections. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123(11): 1002-6.
28. Lim TK, Mukhopadhyay A, Gough A, Khoo KL, Khoo SM, Lee KH, Kumarasinghe G: Role of clinical judgment in the application of a nucleic acid amplification test for the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 2003;124(3): 902-8.
29. Dowdy DW, Maters A, Parrish N, Beyrer C, Dorman SE. Cost-Effectiveness Analysis of the Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test as Used Routinely on Smear-Positive Respiratory Specimens. *J Clin Microbiol* 2003; 41(3): 948-53.
30. Catanzaro A, Perry S, Clarridge JE, Dunbar S, Goodnight-White S, LoBue PA, Peter C, Pfyffer GE, Sierra MF, Weber R, Woods G, Mathews G, Jonas V, Smith K, Della-Latta P. The role of clinical suspicion in evaluating a new diagnostic test for active tuberculosis: results of a multicenter prospective trial. *JAMA* 2000; 283: 639.

Yazışma Adresi:

Dr. Can BİÇMEN
Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
35110 Yenışehir / İZMİR
Tel: 0 232 4333333 (2137)
e-posta: cbicmen@yahoo.com
